Product sheet

Celule TMD8 | 305729

Informații generale

Description	Linia celulară TMD8 este un model uman de limfom difuz cu celule B mari (DLBCL) reprezentativ pentru subtipul ABC (activated B-cell-like). Acest subtip este caracterizat prin activarea constitutivă a căii NF-κB, care este esențială pentru supraviețuirea celulelor. TMD8 prezintă CARD11 de tip sălbatic, dar menține o activitate NF-κB puternică, indicând o dependență de semnalizarea activă cronică a receptorului celulelor B (BCR). Această dependență este susținută de dovezi experimentale care arată că reducerea componentelor căii BCR - inclusiv BTK, CD79A, CD79B și IgM - duce la moartea celulară în celulele TMD8. În plus, TMD8 prezintă o mutație Y196H în domeniul ITAM al CD79B, o mutație frecvent întâlnită în ABC-DLBCL care sporește expresia BCR de suprafață și atenuează feedback-ul negativ de la Lyn kinaza, promovând astfel o activitate de semnalizare susținută. Celulele TMD8 demonstrează, de asemenea, o sensibilitate notabilă la inhibarea BCL-2 prin venetoclax atunci când exprimă niveluri ridicate ale proteinei BCL-2. Cu toate acestea, rezistența la venetoclax în astfel de celule poate fi mediată de activarea căii PI3K/AKT, în special după expunerea prelungită la medicament. Acest mecanism de rezistență implică o reducere a expresiei PTEN și creșterea fosforilării AKT. Celulele TMD8 cu rezistență dobândită la venetoclax prezintă o susceptibilitate crescută la inhibarea farmacologică a căii PI3K/AKT, ceea ce le transformă într-un model adecvat pentru studiul combinațiilor terapeutice menite să depășească rezistența în limfoamele agresive cu celule B.
Organism	Om
Tissue	Măduva osoasă
Disease	Limfom difuz cu celule B mari activat de tipul celulelor B
Synonyms	TMD-8, Universitatea medicală și stomatologică din Tokyo 8

Caracteristici

Age	62 de ani
Gender	Masculin
Ethnicity	Japoneză
Growth properties	Suspensie

Date de reglementare

Citation	TMD8 (număr de catalog Cytion 305729)

Celule TMD8 | 305729

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_A442

Date biomoleculare

Mutational profile	Mutaţie: CD79B, Simplu, p.Tyr196His (c.586T>C), Heterozigotă, M aniD88, Simplu, p.Leu252Pro (c.755T>C) (L265P), Heterozigotă

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO3 (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentaţi mediul cu 10% FBS
Doubling time	~30 de ore
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creştere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezgheţare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanţi optimizaţi şi stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea şi a reduce stresul indus de criogenie.

Celule TMD8 | 305729

Thawing and Culturing Cells	1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului. 2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată. 3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață. 4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere. 5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor. 6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual. 7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă. 8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, atmosferă umidificată.
Flask Coating	Niciuna
Freezing Procedure	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.
Shipping Conditions	Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.